dc_6_10

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

ÚJ ENZIMES STRATÉGIÁK LAKTÁM ÉS AMINOSAV ENANTIOMEREK SZINTÉZISÉRE

FORRÓ ENIKŐ

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM, GYÓGYSZERKÉMIAI INTÉZET

SZEGED, 2010.

ELŐZMÉNYEK ÉS CÉLKITŰZÉSEK

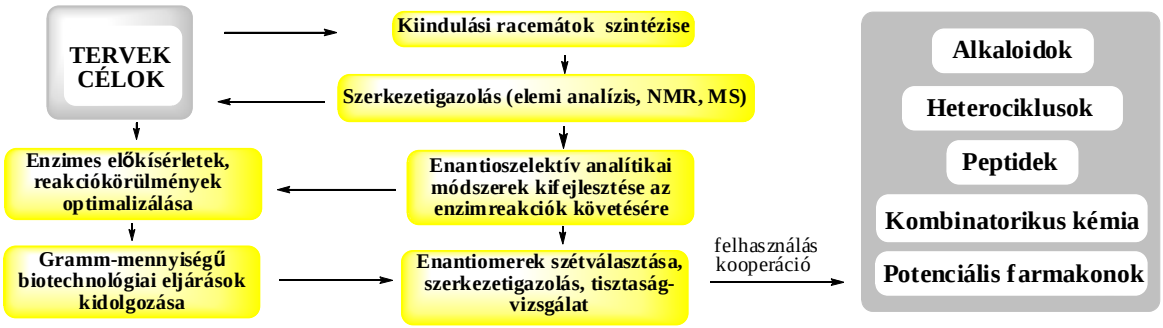
A királis gyógyszermolekulák esetében a biológiai hatás gyakran egyik sztereoizomerben (enantiomerben) van jelen hangsúlyozottabban (pl. a *β*-blokkolók köréből a *propranolol*, *atenolol*, *metoprolol*, *timolol*), vagy esetleg az egyik enantiomer nem kívánt hatás hordozója lehet (pl. a *talidomid, etambutol, penicillamin*), ezért a gyógyszerkutatás kezdeti fázisában igen nagy jelentősége van a kívánt hatással rendelkező vegyület (racemát) lehetséges sztereoizomerjeinek (enantiomerjeinek) szintézisére és külön-külön történő vizsgálatára. Enantiomerek egyidejű előállítására kiválóan alkalmazható módszer az enzim-katalizált kinetikus rezolválás (*megj*. az elméleti max. termelés 50%). Ugyanakkor, egyetlen enantiomer célirányos előállítása pl. enzim-katalizált kinetikus dinamikus rezolválással (az elméleti max. termelés 100%) is megvalósítható.

Az enantiomertiszta természetes anyagok szintézisére irányuló törekvéseknek, valamint a korszerű gyógyszerkutatási és gyógyszerbevezetési elveknek (enantiomertiszta farmakonok előállítása) megfelelően, hatékony és egyszerű új enzimes módszerek kifejlesztését terveztük, az intézeti fő-profilba is jól illeszkedő enantiomertiszta aminosavak, laktámok és rokonvegyületeik szintézisére.

Az új direkt enzimes stratégiák segítségével biológiailag aktív vegyületek és gyógyszerek kulcs-intermedierjeinek (pl. Anatoxin-*a* Amipurimycin, Abacavir, Taxol oldallánc, Sitagliptin) szintézisét terveztük megvalósítani. A hangsúlyt a célmolekulák enantiomertiszta formában történő szintézisére fektettük.

MÓDSZEREK

Az egyes munkákon belül jól elkülöníthető lépések követik egymást: a racém szubsztrát szintézise; az enzimes reakció követésére alkalmas analitikai módszer kidolgozása; az optimalizálási, fél-mikroméretű enzimes reakciók kivitelezése (enzim, acil donor vagy nukleofil, oldószer, adalék, hőmérséklet, *stb*. enantioszelektivitásra és reakció sebességére gyakorolt hatásának vizsgálata); a preparatív-mennyiségű enzimes rezolválás; a termékek izolálása és jellemzése. Az enzimes előkísérletek során hangsúlyt kívántunk fektetni arra is, hogy természetbarát körülményeket találjunk, pl. a környezetre kevésbé káros “zöld” oldószerek használatával.



A fél-mikroméretű enzimes reakciókat Innova 4080 rázógépben végeztük, a reakciók előrehaladását a konverzió számításával [(3), ahol az A_1-A_4 az alapvonalra elválasztott enantiomercsúcsok területintegráljait jelentik és $A_2 > A_1$, valamint $A_3 > A_4$] adtuk meg. A termékek enantiomerfeleslegét (*ee*) az (1) és (2) képletek segítségével számítottuk, míg az enzimes reakciókra jellemző enantioszelektivitási, dimenzió nélküli érték (*E*; azt mutatja meg, hogy egyik enantiomer hányszor gyorsabban alakul termékké, mint az antipódja) számítása a (4) képlet szerint történt. A meghatározásokhoz királis oszloppal (Chromopack Chiralsil-Dex CB, Chir-L-Val, Supelco Gamma-Dex^{TM} 225) felszerelt gázkromatográfot (GC), *ill*. királis oszloppal (Chiralpak IA, Chirobiotic TAG, APEX Octadecyl 5 µ) felszerelt folyadékkromatográfot (HPLC) használtunk.

(1) $ee_S = \frac{A_3-A_4}{A_3+A_4}$ (2) $ee_P = \frac{A_2-A_1}{A_1+A_2}$ (3) $konv. = \frac{ee_S}{ee_S+ee_P}$ (4) $E = \frac{\ln \frac{(1-ee_S)}{(1+ee_S/ee_P)}}{\ln \frac{(1+ee_S)}{(1+ee_S/ee_P)}}$

Az enantiomertiszta termékeket szerkezetigazolással (^{1}H-, ^{13}C-NMR, Bruker DRX 400, 500), olvadáspont-méréssel (Kofler készülék), az *ee* [Varian GC (3900), *ill*. Jasco HPLC (quaternary gradient pump PU-2089plus, multiwavelength detector MD-2010plus)] és az optikai forgatóképesség, α (Perkin Elmer 341) értékek megadásával jellemeztük.

A könnyebb áttekinthetőség érdekében a tézisfüzetben az Értekezéssel megegyező vegyület-számozást alkalmaztam.

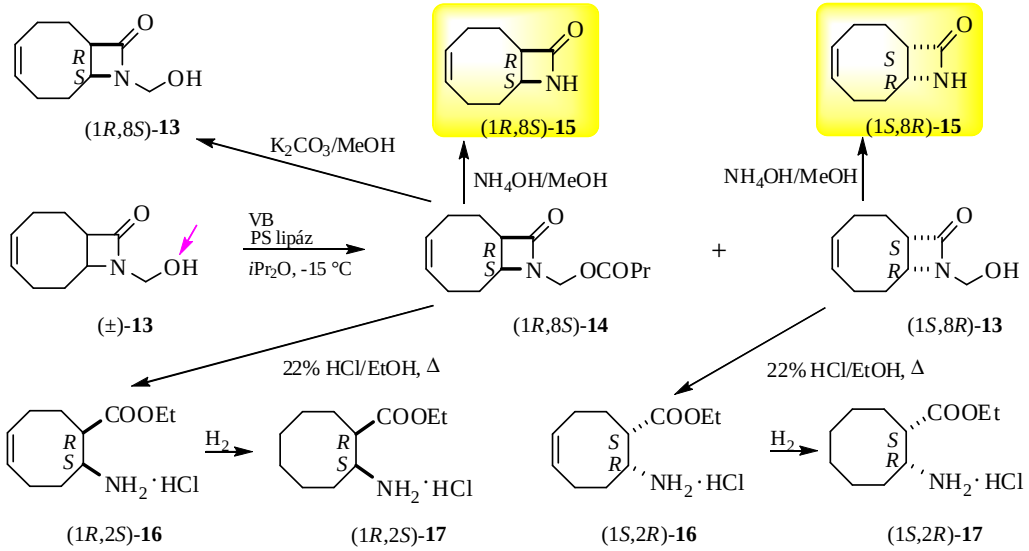
ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

I. Indirekt enzimes módszerek

1. Egyszerű indirekt enzimes eljárást dolgoztunk ki karbociklusos β-laktámok, így a 7-aza-biciklo[4.2.0]oktán-8-on, a 7-aza-biciklo[4.2.0]okt-4-én-8-on és a 7-aza-biciklo[4.2.0]okt-3-én-8-on rezolválására az N-(hidroxi-metilezett)-származékaik aszimmetrikus O-acilezésén keresztül [1]. A királis centrum és reakcióhely egymástól való viszonylagos nagy távolsága ellenére kiváló *S* enantioszelektivitást ($E > 200$) értünk el, amikor a reakciókat *Pseudomonas cepacia* PS lipáz (Celitre immobilizált) katalízissel, 2 ekv. vinil-butiráttal, acetonban, szobahőmérsékleten végeztük. Az oszlopkromatográfiásan szétválasztott termék enantiomerekből savas hidrolízissel előállítottuk a megfelelő karbociklusos aminosav enantiomereket (*ee* ≥ 97%), míg az enzimes reakcióban el

nem reagált N-(hidroxi-metil)-szubsztituált laktám enantiomerekből NH_4OH/MeOH-os kezelésével enantiomertiszta (*ee* ≥ 94%) *β*-laktámokat kaptunk.

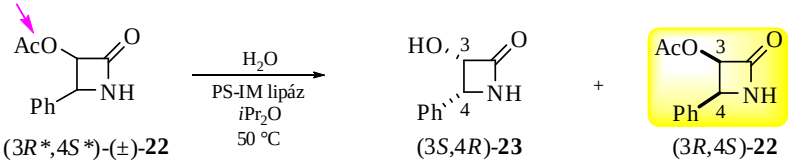
2. **A**z enantiomertiszta Anatoxin-*a* (a nikotinos acetilkolin receptorra sztereospecifikus agonista, igen erős idegméreg) előállítására formális totál szintézist dolgoztunk ki a 9-(hidroxi-metil)-9-aza-biciklo[6.2.0]dek-4-én-10-on [(±)-**13**] lipáz-katalizált aszimmetrikus O-acilezésén keresztül [2]. A legjobb enantioszelektivitást (*E* = 94) akkor értük el, amikor a primer OH acilezését 2 ekv. vinil-acetáttal, Celitre immobilizált PS lipáz jelenlétében, *i*Pr_2O-ben, -15 ºC-on végeztük.



Az enantiomerdús alkohol [(1*S*,2*R*)-**13**] és észter [(1*R*,2*S*)-**14**] termékeket (*ee* ≥ 92%) oszlopkromatográfiás szétválasztásuk után, NH_4OH/MeOH-os kezeléssel alakítottuk a kívánt (1*R*,2*S*)-**15** és (1*S*,2*R*)-**15**, Anatoxin-*a* intermedierekké (*ee* ≥ 93%). Ugyanakkor, az (1*S*,2*R*)-**13** és (1*R*,2*S*)-**14**] gyűrűnyitásán, majd ezt követő hidrogénezésén keresztül 8-tagú gyűrűs telítetlen és telített *β*-aminosav származékokat [(1*R*,2*S*)-**16**, **17** és (1*S*,2*R*)-**16**, **17**] állítottunk elő.

3. Hatékony indirekt enzimes módszert dolgoztunk ki aciklusos *β*-laktámok, így a 4-fenil- és 4-(*p*-tolil)-2-azetidinonok enzimes rezolválására mind a N-(hidroxi-metilezett)-4-aril-szubsztituált *β*-laktámok enantioszelektív acilezésén, mind pedig az N-(acetoxi-metilezett)-származékok enantioszelektív hidrolízisén keresztül [3]. Azt találtuk, hogy a Celitre immobilizált PS lipáz mind az acilezést (vinil-butiráttal, toluolban, 25 ºC-on), mind pedig a deacilezést (EtOH-al, *i*Pr_2O-ben, 40 ºC-on) *R* szelektivitással katalizálta. Kiváló enantioszelektivitás ($E_{acilezés}$ és $E_{hidrolízis}$ > 200) jellemezte a 4-fenil-2-azetidinon enzimes rezolválásait, míg a 4-(*p*-tolil)-2-azetidinon esetében végzett enzimes rezolválások esetében alacsonyabb értékeket tapasztaltunk ($E_{acilezés}$ = 57, $E_{hidrolízis}$ = 89).

4. Kidolgoztuk a racém *cisz*-3-acetoxi-4-fenil-2-azetidinon [(3*R**,4*S**)-(±)-**22**] C3 észter funkció enzimes hidrolízisét szerves oldószerben [4]. Jó enantiomerfelesleggel (*ee* = 94%) de viszonylag alacsony termeléssel (33%) kaptuk a kívánt abszolút konfigurációjú Taxol oldallánc kulcs-intermedier laktám enantiomert [(3*R*,4*S*)-**22**], amikor a hidrolízist 0,5 ekv. hozzáadott H_2O-el, *Burkholderia cepacia* lipáz (PS-IM)-katalízissel, *i*Pr_2O-ben, 50 ºC-on végeztük (a reakciót 56%-os konverziónál állítottuk le). A termékek szétválasztását oszlopkromatográfiával végeztük.



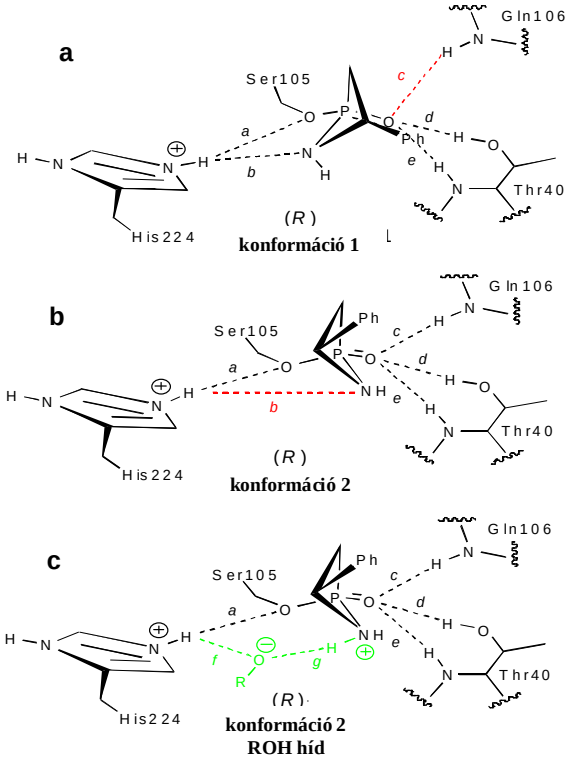
(3*R**,4*S**)-(±)-**22** (3*S*,4*R*)-**23** (3*R*,4*S*)-**22**

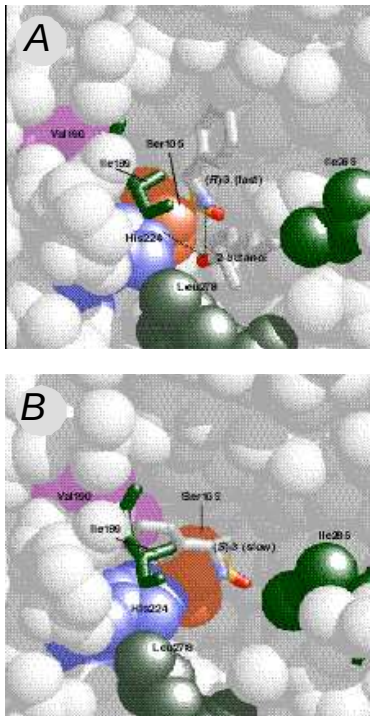
II. Direkt enzimes módszerek

β-Laktámok enantioszelektív gyűrűnyitása

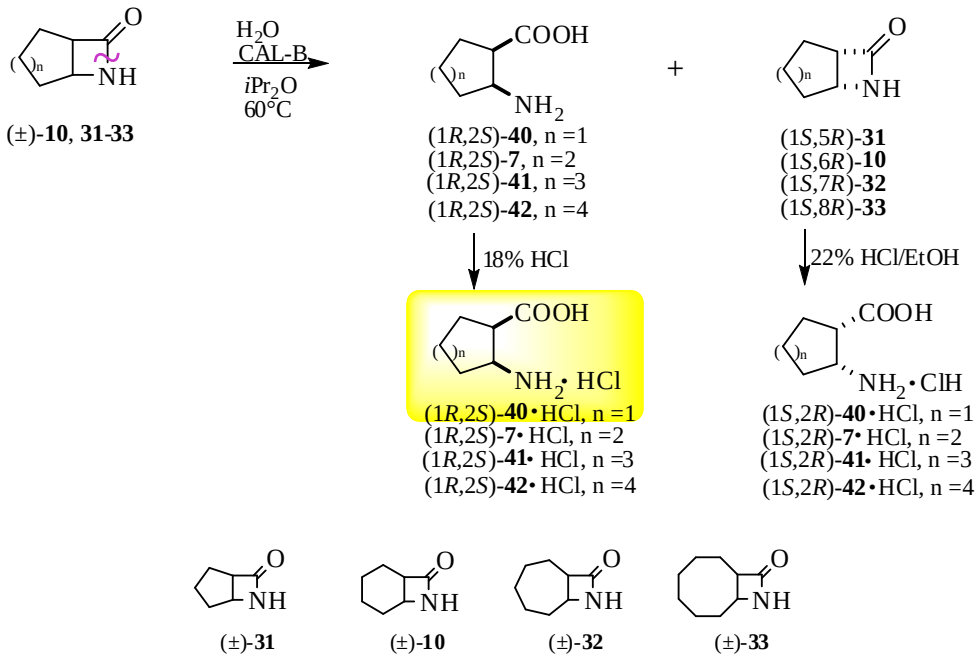
5. Új direkt enzimes eljárást adtunk meg a karbociklusos 7-aza-biciklo[4.2.0]okt-3-én-8-on és a 7-aza-biciklo[4.2.0]okt-4-én-8-on, valamint aciklusos 4-fenil- és 4-(*p*-tolil)-2-azetidinonok rezolválására, szerves oldószerben [5]. Kiváló enantioszelektivitás (*E* > 200) jellemezte a reakciókat, amikor *Candida antarctica* B lipázt (Novozym 435) használtunk katalizátorként, 2-oktanolt nukleofilként, és a reakciókat *i*Pr_2O-ben, 60 ºC-on végeztük. Nagy enantiomerfelesleggel (*ee* ≥ 96%) és jó termeléssel (39–46%) kaptuk az el nem reagált laktám enantiomereket, azonban a gyűrűnyílt aminoésztereket nem tudtuk izolálni (valószínűsítettük a termék polimerizációját, hidrolízisét). Nagy enantiomerfelesleggel (*ee* ≥ 96%) de igen kis mennyiségben (7–11%) izoláltunk *β*-aminosavakat. Azt feltételeztük, hogy a *β*-laktámok lipáz-katalizált, alkoholokkal történő átészterződési reakciói két lépésben mennek végbe: a *β*-laktám gyűrűnyitása, majd a keletkezett acil-enzim intermedier deacilezése. A *Candida antarctica* B lipáz, laktámok gyűrűnyitása során tanúsított aktivitásának és enantioszelektivitásának, valamint az alkohol kritikus szerepének megmagyarázására, számítógépes modellezést végeztünk a 4-fenil-2-azetidinon gyűrűnyitására. A molekula-modellezést az enantiodiszkriminatívnak feltételezett első lépésre szűkítettük, a Ser OH karbonilra történő támadása során keletkező tetrahedrális intermedier modellezését pedig az analóg foszfonáttal végeztük. Azt találtuk, hogy a reakció egy szokatlan átmeneti állapoton keresztül zajlik, amelyben szervesen részt vesz a nukleofil 2-oktanol (H_2O), azaz bekötődik a katalitikus His és a gyorsan reagáló (*R*)-laktám nitrogénje közé (*A*), mintegy hídként helyettesítve a hiányzó, kulcsfontosságú hidrogénkötést (*c*). Az ***A*** (a 2-oktanol aktív részvételével ábrázolt **c** konformációnak felel meg) és ***B*** [megfelel a konformáció 1-nek (**a**)]

ábrázolásban a gyorsan [(*R*)-laktám] és lassan [**(***S*)-laktám] reagáló enantiomerek javasolt tetrahedrális intermedier analógjai láthatók.





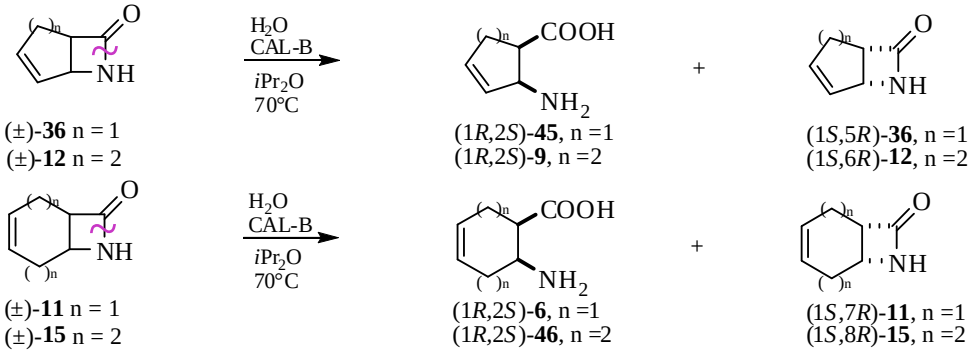
6. Igen hatékony és egyszerű direkt enzimes módszert dolgoztunk ki elsőként karbociklusos *cisz* *β*-aminosavak szintézisére a megfelelő, nem védett *β*-laktámok [(±)-**10**, **31**–**33**] szerves közegű enantioszelektív gyűrűnyitásán keresztül [6].



A kiváló enantioszelektivitással (*E* > 200) zajló reakciókból [*Candida antarctica* B lipáz (Lipolase) katalízissel, 1 ekv. hozzáadott H_2O-el, *i*Pr_2O-ben, 60 ºC-on] nagy enantiomerfelesleggel (*ee* ≥ 93%) és jó termeléssel (≥ 36%) kaptuk a termékeket. A módszer egyik nagy előnye, hogy a termék aminosav [(1*R*,2*S*)-**7**, **40**–**42**] és el nem reagált laktám [(1*S*,6*R*)-**10**, (1*S*,5*R*)-**31**, (1*S*,7*R*)-**32** és (1*S*,8*R*)-**33**] enantiomerek szétválasztását egyszerű módon, szerves-vizes extrakcióval végeztük. Az eljárást méretnöveltük és grammos tételben állítottuk elő a gombaellenes aktívitású ciszpentacint {(1*R*,2*S*)-2-amino-1-ciklopentán karbonsav hidroklorid [(1*R*,2*S*)-**40**·HCl; *ee* ≥ 99%,] és másik 3 homológját [(1*R*,2*S*)-**7**·HCl, **41**·HCl és **42**·HCl; *ee* ≥ 96%].

7. Direkt enzimes eljárást dolgoztunk ki az 1,4-etil- és 1,4-etilén-áthidalt ciszpentacin, új ciszpentacin származékok előállítására, a megfelelő racém *exo*-3-aza-triciklo[4.2.1.$0^{2.5}$]nonán-4-on és *exo*-3-aza-triciklo[4.2.1.$0^{2.5}$]non-7-én-4-on *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase)-katalizált enantioszelektív (*E* > 200) gyűrűnyitásán keresztül [7]. Az 1 ekv. hozzáadott H_2O-el, *i*Pr_2O-ben, 70 ºC-on végzett reakciók, nagy enantiomerfelesleggel (≥ 98%) és jó termeléssel eredményezett termékeket (≥ 40%) szerves-vizes extrakcióval választottuk szét.

8. További funkcionalizálás lehetőségét kínálva, telítetlen karbociklusos *cisz*-2-amino-1-cikloalkánkarbonsavakat [(1*R*,2*S*)-**6**, **9**, **45**, **46**] szintetizáltunk jó termeléssel (≥ 45%) és nagy enantiomerfelesleggel (*ee* ≥ 95%), a megfelelő telítetlen racém *β*-laktámok *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase)-katalizált enantioszelektív (*E* > 200) gyűrűnyitásán keresztül. A reakciókat 1 ekv. hozzáadott H_2O-el, *i*Pr_2-ben, 70 ºC-on végeztük [8].

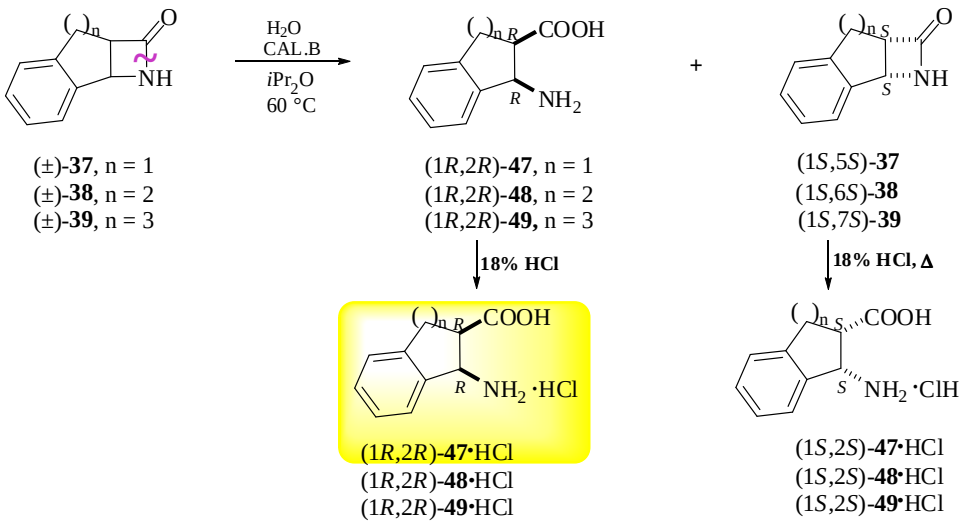


(±)-**36** n = 1 (±)-**12** n = 2 → (1*R*,2*S*)-**45**, n =1 (1*R*,2*S*)-**9**, n =2 + (1*S*,5*R*)-**36**, n =1 (1*S*,6*R*)-**12**, n =2

(±)-**11** n = 1 (±)-**15** n = 2 → (1*R*,2*S*)-**6**, n =1 (1*R*,2*S*)-**46**, n =2 + (1*S*,7*R*)-**11**, n =1 (1*S*,8*R*)-**15**, n =2

9. Kiváló enantiomerfelesleggel (*ee* ≥ 96%) állítottuk elő a benzociszpentacint [(1*R*,2*R*)-**47**·HCl és új, hat- [(1*R*,2*R*)-**48**·HCl)], *ill*. héttagú [(1*R*,2*R*)-**49**·HCl)] homológjait. A racém 3,4-benzo-6-aza-biciklo[3.2.0]heptán-7-on [(±)-**37**], a 4,5-benzo-7-aza-biciklo[4.2.0]oktán-8-on [(±)-**38**] és az 5,6-benzo-8-aza-biciklo[5.2.0]nonán-9-on [(±)-**39**] enantioszelektív gyűrűnyitását (*E* > 200) *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase)-katalizissel, 1 ekv. hozzáadott H_2O-el, *i*Pr_2-ben, 60 ºC-on végeztük [9]. Fontos megjegyezni, hogy a *Candida antarctica* B lipáz enantiopreferenciája a

korábbiakban bemutatott gyűrűnyitásokhoz képest nem, csupán a királis centrumhoz kötődő szubsztituensek prioritási sorrendje változott.



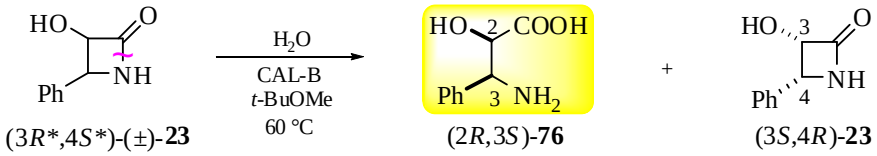
10. Környezetkímélő, oldószermentes, *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase)-kalizált eljárást optimalizáltunk mono-, bi- és triciklusos, valamint 4-aril-szubsztituált *β*-laktámok enantioszelektív gyűrűnyitására. A szerves oldószerben végzett reakciókkal összehasonlítva, viszonylag lassúbb reakciókat tapasztaltunk, az enantioszelektivitási értékek azonban változatlanul kiválóak ($E > 200$) voltak. A reakciókat az enzim mennyiségének növelésével gyorsítottuk, az enzim újra-felhasználásával pedig a módszert gazdaságossá tettük. Az új, "zöld" módszert sikeresen alkalmaztuk a ciszpentacin és különböző származékainak enantiomertiszta formában történő előállítására [10].

11. Elsőként állítottunk elő enantiomertiszta nagy gyűrűtagszámú *transz β*-aminosavakat *transz-β*-laktám enzimes gyűrűnyitásán keresztül ($ee \geq 98\%$) [11]. Kidolgoztuk a *cisz*-13-aza-biciklo[10.2.0]tetradekán-14-on rezolválása mellett a *transz*-13-aza-biciklo[10.2.0]tetradekán-14-on enzim-katalizált enantioszelektív ($E > 200$) gyűrűnyitását is [*Candida antarctica* B lipáz (Lipolase), 0,5 ekv. hozzáadott H_2O, iPr_2O, 70 °C].

12. Új, hatékony direkt enzimes módszert optimalizáltunk enantiomertiszta ($ee \geq 95\%$) *β*-aril-szubsztituált *β*-aminosavak és *β*-laktámok előállítására a megfelelő 4-aril-szubsztituált *β*-laktámok enantioszelektív hidrolízisén keresztül [12]. Kiváló enantioszelektivitást ($E > 200$) értünk el, amikor a reakciókat *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase)-katalízissel, 1 ekv. hozzáadott H_2O-el, iPr_2-ben, 60 °C-on végeztük. Fontos megjegyezni, hogy nem találtunk összefüggést az arilgyűrű szubsztituensének sztérikus és elektronikus természete és laktám gyűrűnyitásának aktiválása közt. A módszert kiterjesztettük a 4-benzil- és 4-fenil-etil-szubsztituált *β*-laktámok rezolválására [13], azonban mindkét esetben viszonylag alacsony enantioszelektivitást ($E \sim 12$) tapasztaltunk az

optimalizált körülmények [*Candida antarctica* B lipáz (Lipolase), 0,5 ekv. hozzáadott H_2O, *i*Pr_2O, 45 ºC] között. Így, két lépésben végeztük az enzimes rezolválásokat és kaptuk viszonylag jó enantiomerfeleslegekkel (*ee* ≥ 87%), de alacsony termelések (≤ 36%) mellett a laktám és aminosav termékeket.

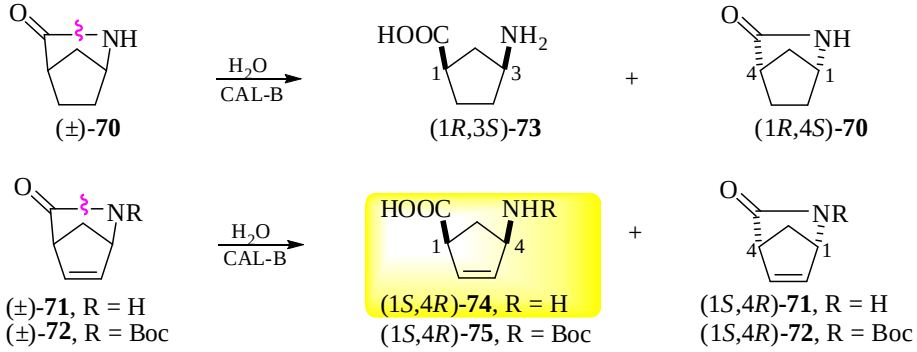
13. Hatékony direkt enzimes stratégiát dolgoztunk ki a racém *cisz*-3-hidroxi-4-fenil-2-azetidinon [(3*R**,4*S**)-**23**] enantioszelektív (*E* > 200) gyűrűnyitására [4]. A célmolekula (2*R*,3*S*)-3-fenilizoszerint [(2*R*,3*S*)-**76**], a Taxol oldallánc kulcs-intermedierjét kiváló enantiomerfelesleggel (*ee* > 98%) és jó termeléssel (48%) kaptuk, amikor a (3*R**,4*S**)-**23** hidrolízisét 0,5 ekv. hozzáadott H_2O-el, *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase) katalízissel, *t*-BuOMe-ben, 60 ºC-on végeztük. A termékeket szerves-vizes extrakcióval választottuk szét.



(3*R**,4*S**)-(±)-**23** (2*R*,3*S*)-**76** (3*S*,4*R*)-**23**

γ-Laktámok enantioszelektív gyűrűnyitása

14. Kidolgoztunk egy új enzimes eljárást mind N-védett [(±)-**72**], mind pedig szabad NH funkciót [(±)-**70**, **71**] tartalmazó γ-laktámok enantioszelektív hidrolízisére [14,15]. Kiváló enantioszelektivitást (*E* > 200) értünk el *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase) enzimet használva katalizátorként, 0,5 ekv. vizet nukleofilként és amikor a reakciókat *i*Pr_2O-ben, 30 °C-on vagy 65 °C-on végeztük. A nagy enantiomerfelesleggel (*ee* ≥ 96%), jó termelés mellett (> 42%) kapott el nem reagált γ-laktámot és gyűrűnyílt γ-aminosavat N-védett termékek esetén oszlopkromatográfiásan, szabad NH funkciót tartalmazó termékek esetén pedig szűréssel választottuk szét. A módszer segítségével preparatív mennyiségben (> 5 g) állítottuk elő az Abacavir és Carbovir (antivirális hatású gyógyszerek) szintézisének kulcs-intermedierjét, az (1*S*,4*R*)-4-aminociklopent-2-én-1-karbonsavat [(1*S*,4*R*)-**74**].



(±)-**70** (1*R*,3*S*)-**73** (1*R*,4*S*)-**70**

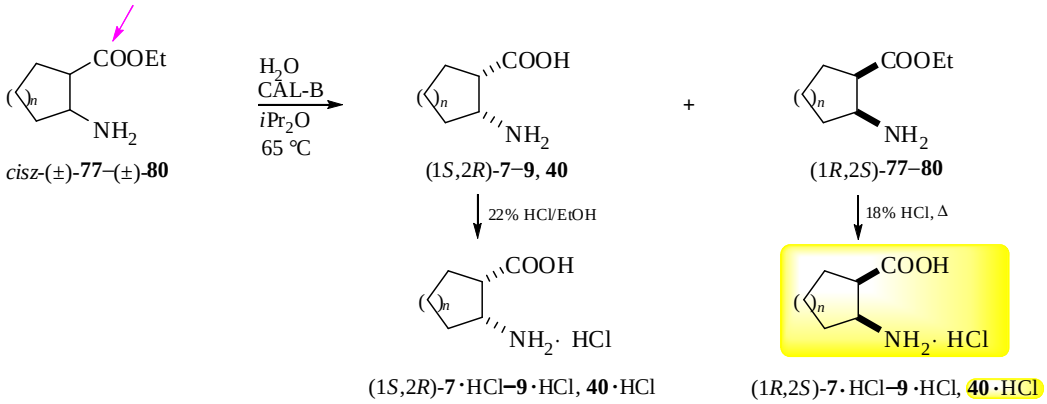
(±)-**71**, R = H
(±)-**72**, R = Boc

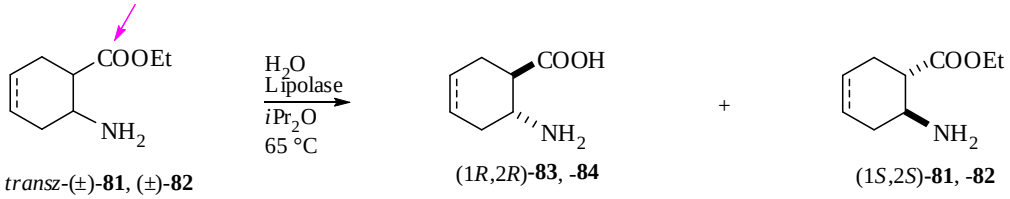
(1*S*,4*R*)-**74**, R = H
(1*S*,4*R*)-**75**, R = Boc

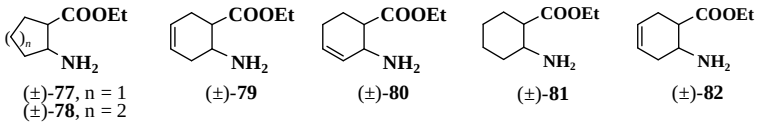
(1*S*,4*R*)-**71**, R = H
(1*S*,4*R*)-**72**, R = Boc

β-Aminoészterek enantioszelektív hidrolízise

15. Új enzimes eljárást dolgoztunk ki karbociklusos *cisz* [(±)-**77**–**80**] és *transz* [(±)-**81** és (±)-**82**] *β*-aminoészterek enantioszelektív hidrolízisére, szerves közegben [16,17]. Nagy enantioszelektivitást (*E* általában > 100) értünk el, amikor a hidrolízist *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase) katalízissel, 0,5 ekv. hozzáadott H_2O-el, *i*Pr_2O-en, 65 °C-on végeztük. Az eljárással sikeresen állítottunk elő jó termeléssel mind *cisz* (≥ 42%), mind pedig *transz* (≥ 44%) enantiomertiszta (*ee* ≥ 96%) *β*-aminosavakat [köztük a ciszpentacint [(1*R*,2*S*)-**40**·HCl, n=1)].

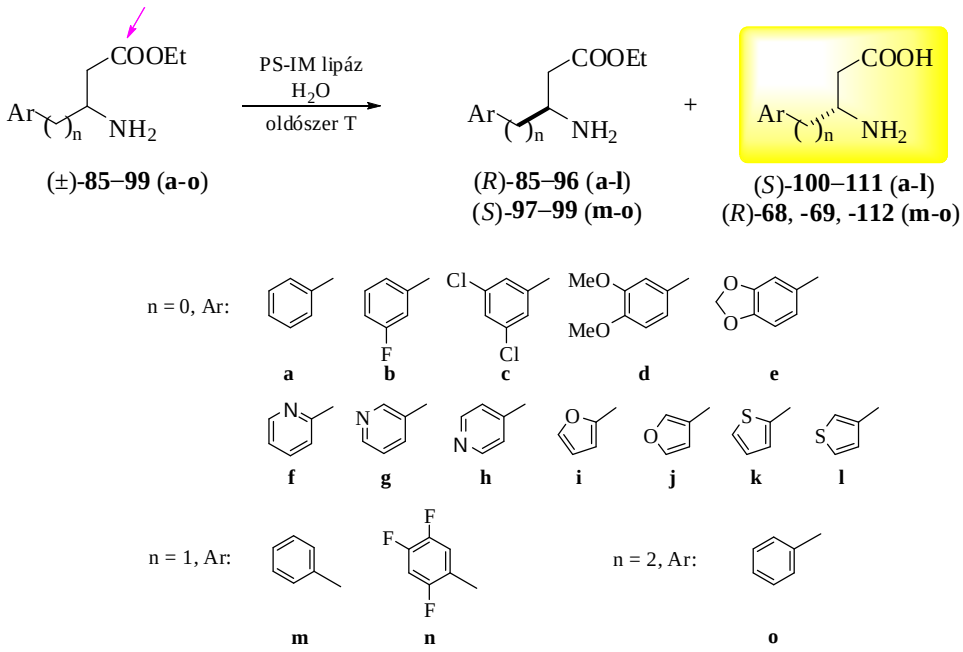




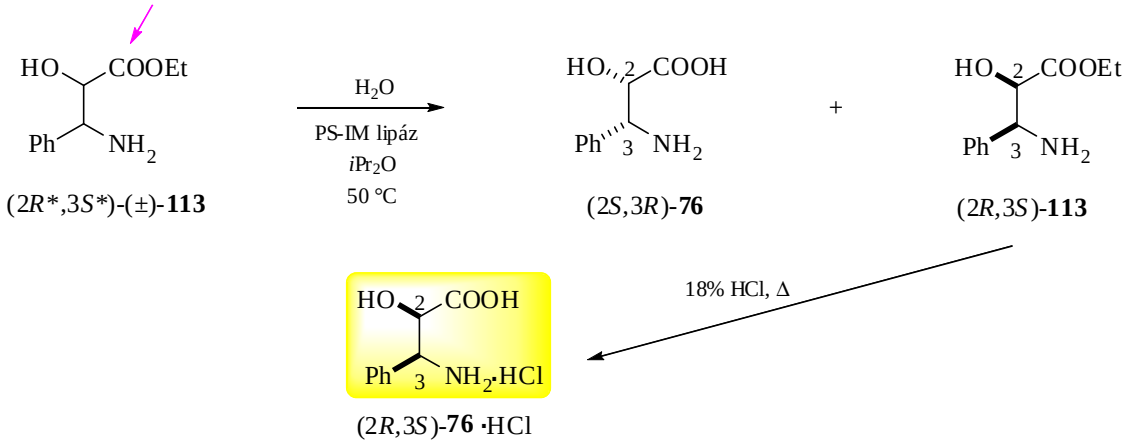


16. Direkt enzimes eljárást dolgoztunk ki *β*-aril-szubsztituált [(±)-**85**–(±)-**99** (**a-e**)] [18], *β*-heteroaril-szubsztituált [(±)-**85**–(±)-**99** (**f-l**)] [19] és *β*-arilalkil-szubsztituált [(±)-**85**–(±)-**99** (**m-o**)] [20] *β*-aminoészterek enantioszelektív hidrolízisére. Kiváló enantioszelektivitást (*E* > 100) kaptunk, amikor a reakciókat *Burkholderia cepacia* lipáz [PS (Celitre immobilizált), *ill*. PS-IM] katalízissel, 0,5 ekv. hozzáadott H_2O-el, szerves közegben (*i*Pr_2O vagy *t*-BuOMe), viszonylag alacsony hőmérsékleten (25 vagy 45 °C) végeztük. A termék aminoészter és aminosav enantiomereket szerves-vizes extrakcióval választottuk szét. A módszer segítségével, elsőként állítottuk elő enzimes úton, nagy enantiomerfelesleggel (*ee* = 97%) és jó termeléssel (43%) a Sitagliptin intermediert [(*R*)-**112** (**n**)] [20].

dc_6_10



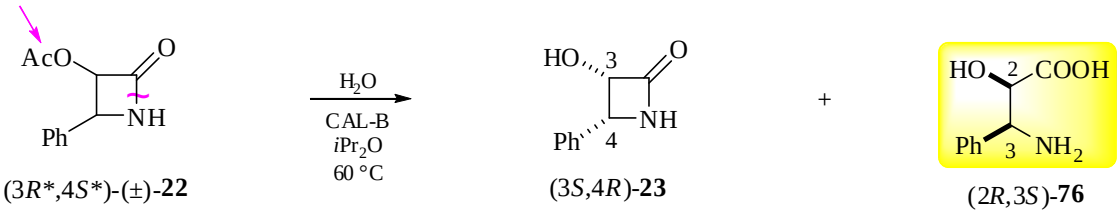
17. Új enzimes stratégiát dolgoztunk ki a (2*R*,3*S*)-3-amino-3-fenil-2-hidroxi-propionsav [(2*R*,3*S*)-**76**·HCl, Taxol kulcs-intermedier] előállítására a racém etil-(3-amino-3-fenil-2-hidroxi-propionát) [(2*R**,3*S**)-(±)-**113**] enantioszelektív hidrolízisén keresztül [21]. Kiváló enantioszelektívitást ($E > 200$) értünk el PS-IM lipázzal, 0,5 ekv. hozzáadott H_2O-el, iPr_2O-ben, 50 ºC-on és nyertük nagy enantiomerfelesleggel (*ee* ≥ 98%), jó termelés mellett (≥ 45%) a termékeket [(2*S*,3*R*)-**76** és (2*R*,3*S*)-**113**], melyek szétválasztását szerves-vizes extrakcióval végeztük.



III. Unikális enzimes dominó reakció, a Taxol kulcs-intermedierjének szintézise

18. Új típusú enzimes szekvenciális reakciót dolgoztunk ki és alkalmaztunk sikeresen a Taxol kulcs-intermedierjének szintézisére. A módszer különlegessége, hogy egy racém szubsztrát, ugyanazon enzim-katalizált két, egymást követő reakció eredményeként két különböző termékké alakul. Esetünkben, a (3*R**,4*S**)-(±)-**22** *Candida antarctica* B lipáz (Lipolase)-katalizált

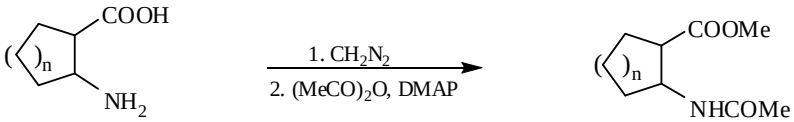
hidrolízise során jó termeléssel (> 43%) kaptuk a két különböző, enantiomertiszta (*ee* ≥ 98%) terméket [(3*S*,4*R*)-**23** és (2*R*,3*S*)-**76** (a Taxol kulcs-intermedierje)] [4]. Fontos kiemelni, hogy a jelen szubsztrát két teljesen különböző egysége vett részt a Lipolase katalízissel, 0,5 ekv. hozzáadott H_2O-el, *i*Pr_2O-en, 60 °C-on végzett átalakításban: a C-3 észter hidrolízise és az amid kötés hidrolítikus hasítása.



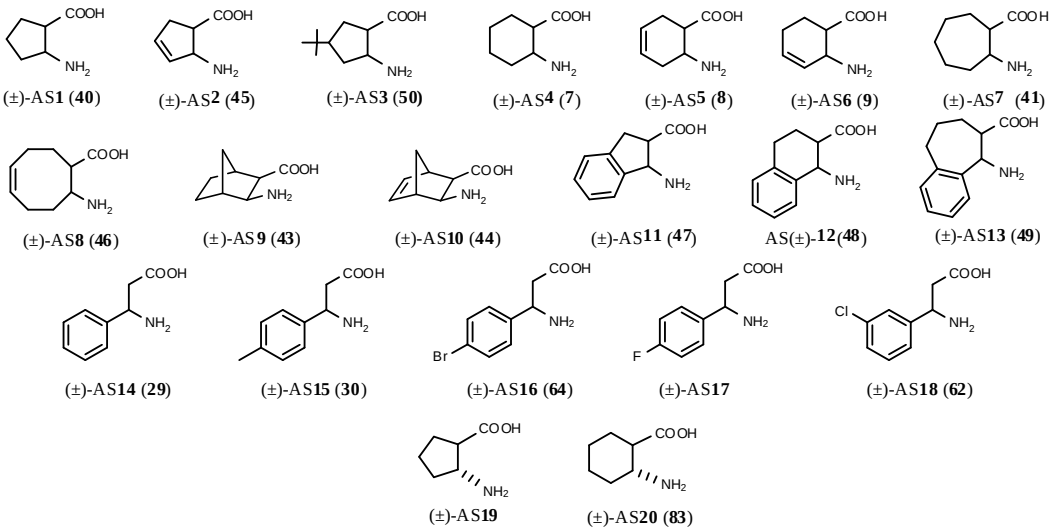
(3*R**,4*S**)-(±)-**22** (3*S*,4*R*)-**23** (2*R*,3*S*)-**76**

IV. Dupla derivatizálás

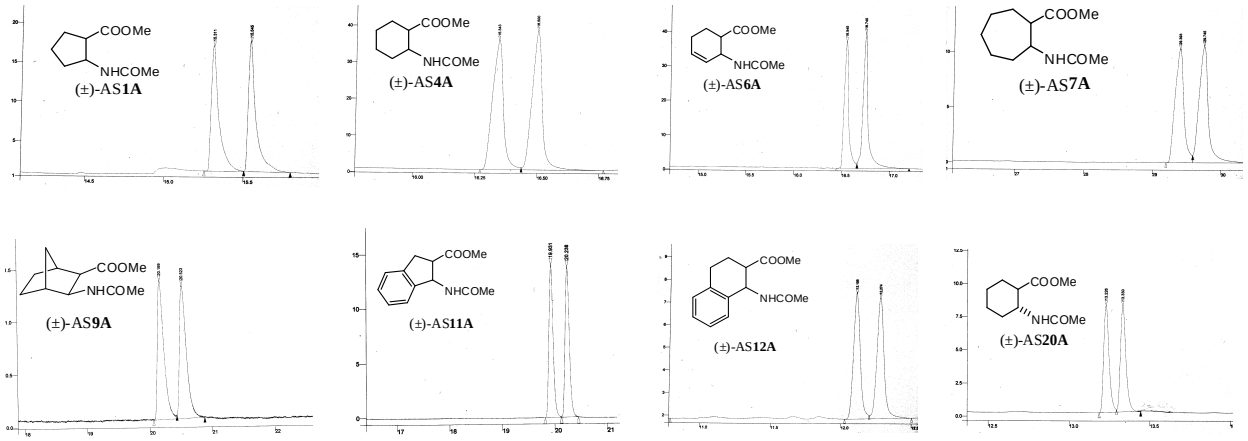
19. Általunk dupla derivatizálás (DD) elnevezéssel ismertetett analitikai módszert (észterezés és ezt követő N-acilezés) dolgoztunk ki különböző *cisz* és *transz* karbociklusos és aciklusos *β*-aminosavak [(±)-AS**1**–AS**20**] gázkromatográfiás elválasztására [22]. A módszer segítségével határoztuk meg a mind direkt, mind pedig indirekt enzimes eljárásokkal előállított aminosavak enantiomerfeleslegeit, így a zárójelekben az ezekre utaló jelölések találhatók.



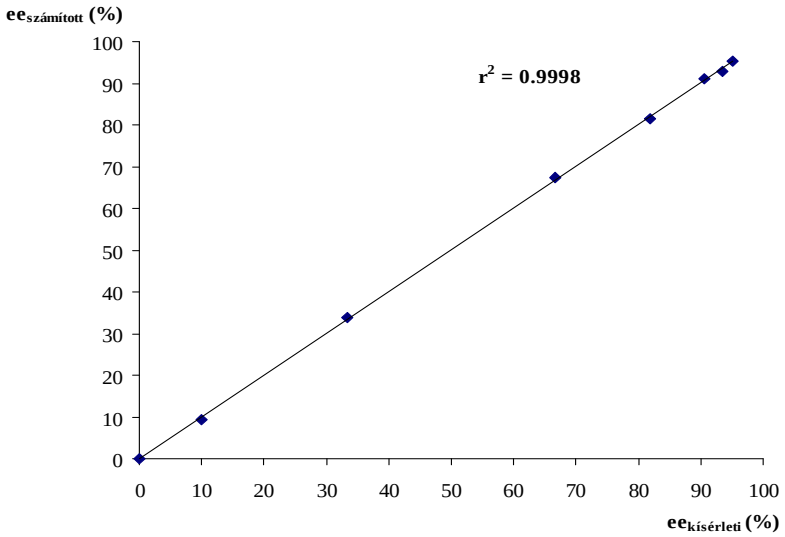
(±)-AS**1**–AS**20** (±)-**AS1A**–AS**20A**



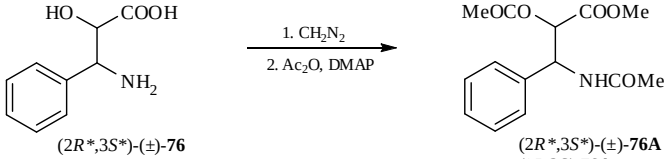
dc_6_10



Az egyszerű és gyors enzimes reakciók követésére kiválóan alkalmas új analitikai módszerekre jó validálási eredményeket kaptunk (LOD, LOQ, linearitás, megbízhatóság megismételhetőség). Fontos kiemelni, hogy az $ee_{\text{számított}}$ (AS**12**) és $ee_{\text{kísérleti}}$ (AS**12A**) értékek közötti kiváló korreláció (r^2 = 0.9998) kizárja a minta DD során elképzelhető legcsekélyebb mértékű racemizációját is.



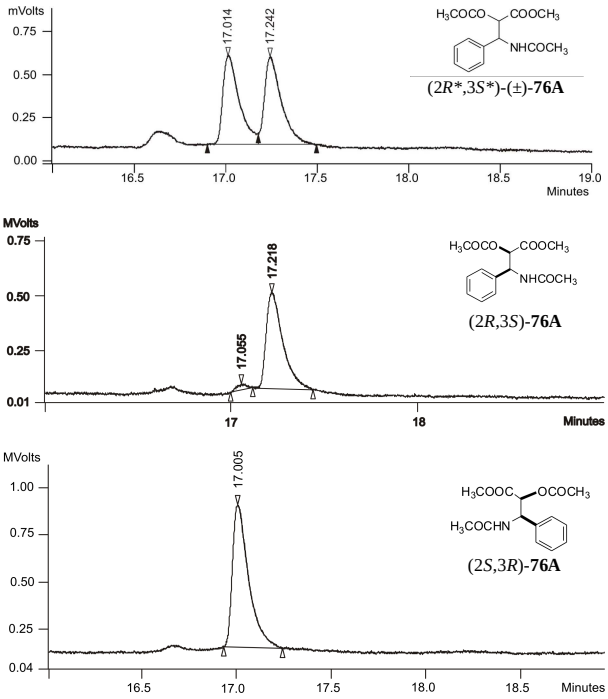
20. DD gázkromatográfiás analítikai módszert dolgoztunk ki a (2*R*,3*S*)-3-amino-3-fenil-2-hidroxi-propionsav [(2*R*,3*S*)-**76**, Taxol oldallánc kulcs-intermedier] enantiomerfeleslegének meghatározására [4]. A módszer segítségével határoztuk meg a mind direkt, mind pedig indirekt enzimes módszerekkel [4,21] előállított aminosavak *ee* értékeket (holt-idő: t_0 = 1,28 min, retenciós faktor: *k'* = 12,32, elválasztás: α = 1,01 és rezolválás: R_S = 1,33).



(2*R**,3*S**)-(±)-**76**
(2*R*,3*S*)-**76**
(2*S*,3*R*)-**76**

(2*R**,3*S**)-(±)-**76A**
(2*R*,3*S*)-**76A**
(2*S*,3*R*)-**76A**

dc_6_10



A tézispontok alatt bemutatott direkt és indirekt enzimes módszereinket az irodalmi háttérrel összevetve, szisztematikusan rendszereztük [23,24] és [31].

AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTÁSA

Az enantiomertiszta biológiailag aktív anyagok nagy volumenű, gazdaságos előállítása iránti egyre növekvő igény miatt, a kutatás eredményei nemcsak tudományos, hanem gyakorlati szempontokból is jelentősek lehetnek.

Egyszerű és igen hatékony direkt és indirekt enzimes módszereket dolgoztunk ki és alkalmaztunk értékes, enantiomertiszta β- és γ-laktámok és β- és γ-aminosavak szintézisére. Így pl. formális totál szintézist adtunk meg az enantiomertiszta Anatoxin-*a* szintézisére. Nagy enantiomerfelesleggel és jó hozammal állítottuk elő a ciszpentacint [(1*R*,2*S*)-2-amino-1-ciklopentán karbonsav] és 8 új analóg és homológ származékait. Megvalósítottuk az Abacavir és Carbovir értékes intermedierjének, az (1*S*,4*R*)-4-aminociklopent-2-én-1-karbonsavnak a szintézisét. Kidolgoztuk az első enzimes utat a Sitagliptin intermedier (*R*)-3-amino-4-(2,4,5-trifluor-fenil)butánsav szintézisére. Több direkt enzimes stratégiát dolgoztunk ki és alkalmaztuk sikeresen a Taxol oldallánc kulcs-intermedierjének, a (2*R*,3*S*)-3-fenilizoszerinnek az előállítására. A β-aminosav enantiomerek szintézisére kifejlesztett direkt enzimes módszerek némelyikét méretnöveltük, több-grammos tételben (> 5g) állítottuk elő a kívánt enantiomereket. Ezen vegyületek képezték, képezik az alapját számos együttműködésnek is.

Két, a β- *és* γ-aminosavak szintézisére kidolgozott enzimes eljárásunk iparjogvédelme megtörtént [14,16]. A **PCT** WO2007091110 A1 [14] szabadalmat a Szegedi Tudományegyetem hasznosításra továbbértékesítette.

Az általunk kidolgozott enzimes módszerekkel készült enantiomerek közül több mint 20 enantiomerünket az Acros Organics és BioBlocks Inc. vállalatok forgalmazzák.

A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEIM

1. J. Kámán; **E. Forró**; F. Fülöp: Enzymatic resolution of alicyclic β-lactams, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1593-1600.
2. **E. Forró**; J. Árva; F. Fülöp: Preparation of (1*R*,8*S*)- and (1*S*,8*R*)-9-azabicyclo[6.2.0]dec-4-en-10-one: potential starting compounds for the synthesis of Anatoxin-*a*, *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 643-649.
3. **E. Forró**; F. Fülöp: Synthesis of 4-aryl-substituted β-lactam enantiomers by enzyme-catalysed kinetic resolution, *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 2351-2358.
4. **E. Forró**; F. Fülöp: New Enzymatic two-step cascade reaction for the preparation of a key Intermediate for the Taxol side-chain, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 3074-3079.
5. S. Park; **E. Forró**; H. Grewal; F. Fülöp; R.J. Kazlauskas: Molecular basis for the enantioselective ring opening of β-lactams catalyzed by *Candida antarctica* lipase B, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 986-995.
6. **E. Forró**; F. Fülöp: Lipase-catalyzed enantioselective ring opening of unactivated alicyclic-fused β-lactams in an organic solvent, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1209-1212.
7. **E. Forró**; F. Fülöp: Synthesis of enantiopure 1,4-ethyl- and 1,4-ethylene-bridged cispentacin by lipase-catalyzed enantioselective ring opening of β-lactams, *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 573-575.
8. **E. Forró**; F. Fülöp: Advanced procedure for the enzymatic ring opening of unsaturated alicyclic β-lactams, *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 2875-2880.
9. **E. Forró**; F. Fülöp: An efficient enzymatic synthesis of benzocispentacin and its new six- and seven-membered homologues, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 2587-2592.
10. **E. Forró**; F. Fülöp: Vapour-assisted enzymatic hydrolysis of β-lactams in a solvent-free system, *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1005-1009.
11. **E. Forró**; F. Fülöp: Do lipases also catalyse the ring cleavage of inactivated cyclic *trans* β-lactams? *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 3193-3196.
12. **E. Forró**; T. Paál; G. Tasnádi; F. Fülöp: A new route to enantiopure β-aryl-substituted β-amino acids and 4-aryl-substituted β-lactams through lipase-catalyzed enantioselective ring cleavage of β-lactams, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 917-923.
13. G. Tasnádi; **E. Forró**; F. Fülöp: *Candida antarctica* lipase B-catalyzed ring opening of 4-arylalkyl substituted β-lactams, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 2841-2844.
14. **E. Forró**; F. Fülöp: *Resolution process*, **PCT**/WO/2009007759 A1 (15.01.2009); *Eljárás ciklusos cisz γ-aminosavak és származékaik enantiomereinek előállítására*, **PO700472** (2007.07.09).
15. **E. Forró**; F. Fülöp: Enzymatic method for the synthesis of blockbaster drug intermediates -synthesis of five-membered cyclic γ-amino acid and γ-lactam enantiomers, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5263-5268.
16. **E. Forró**; F. Fülöp: *Enzymatic resolution process for the preparation of cyclic β-amino acid and ester enantiomers*, **PCT** WO/2007/091110 A1 (16.08.2007); *Eljárás ciklusos β-aminosavak és észtereik enantiomereinek előállítására*, **PO600101** (2006.02.09).
17. **E Forró**; F. Fülöp: The first direct enzymatic hydrolysis of alicyclic β-amino esters: -a route to enantiopure *cis* and *trans* β-amino acids, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 6397-6401.
18. G. Tasnádi; **E. Forró**; F. Fülöp: An efficient new enzymatic method for the preparation of β-aryl-β-amino acid enantiomers, *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, 19, 2072-2077.

19. G. Tasnádi; **E. Forró**; F. Fülöp: *Burkholderia cepacia* lipase is an excellent enzyme for the enantioselective hydrolysis of *β*-heteroaryl-*β*-amino esters, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 1771-1777.
20. G. Tasnádi; **E. Forró**; F. Fülöp: An improved enzymatic method for the preparation of valuable *β*-arylalkyl-substituted *β*-amino acid enantiomers, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 886-895.
21. **E. Forró**; F. Fülöp: A new enzymatic strategy for the preparation of (2*R*,3*S*)-3-phenylisoserine: a key intermediate for the Taxol side-chain, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 637-639.
22. **E. Forró**: New gas chromatographic method for the enantioseparation of *β*-amino acids by a quick double-derivatization technique, *J. Chromatogr. A.* **2009**, *1216*, 1025-1029.
23. **E. Forró**; F. Fülöp: Direct and indirect enzymatic methods for the preparation of enantiopure cyclic *β*-amino acids and derivatives from *β*-lactams, *Mini Rev. Org. Chem.* **2004**, *1*, 93-102.
24. **E. Forró**: *β*-Laktámok enzim-katalizálta kinetikus rezolválása: direkt és indirekt módszerek, *Magy. Kém. Foly.* **2006**, *112*, 39-43.

Egyéb enzimes közleményeim

25. J. Kámán; **E. Forró**; F. Fülöp: Enzyme-catalysed kinetic resolution of *N*,*O*-diacetyl derivatives of cyclic 1,3-amino alcohols, *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 1881-1886.
26. M. Solymár; **E. Forró**; F. Fülöp: Enzyme-catalyzed kinetic resolution of piperidine hydroxy esters, *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 3281-3287.
27. T. Paál; **E. Forró**; A. Liljeblad; L.T. Kanerva; F. Fülöp: Lipase-catalyzed kinetic and dynamic kinetic resolution of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-1-carboxylic acid, *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1428-1433.
28. M. Fitz; **E. Forró**; E. Vigóczki; L. Lázár; F. Fülöp: Lipase-catalysed *N*-acylation of acyclic *β*^{2}-amino esters, *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1114-1119.
29. T.A. Paál; A. Liljeblad; L.T. Kanerva; **E. Forró**; F. Fülöp: Directed: *(R)*- or *(S)*-selective dynamic kinetic enzymatic hydrolysis of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-1-carboxylic esters, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5269-5276.
30. T.A. Paál; **E. Forró**; F. Fülöp; A. Liljeblad; L.T. Kanerva: Lipase-catalyzed kinetic resolution of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-1-acetic acid esters, *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 2784-2788.
31. L. Kiss; **E. Forró**; F. Fülöp: Synthesis of carbocyclic *β*-amino acids, in *Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry*. Vol. 1 (Ed. A. B. Hughes) Wiley-VCH, Weinheim, 2009, *pp* 367-409.
32. M. Utczás; E. Székely; G. Tasnádi; É. Monek; L. Vida; **E. Forró**; F. Fülöp; B. Simándi; Kinetic resolution of 4-phenyl-2-azetidinone in supercritical carbon dioxide, *J. Supercrit. Fluid* **2010**, *közlésre beküldve*.
33. **E. Forró**; L. Schönstein; L. Kiss; A.V. Peñaloza; E. Juaristi; F. Fülöp: Direct enzymatic route for the preparation of novel enantiomerically enriched hydroxylated *β*-amino ester stereoisomers, *Molecules.* **2010**, *15*, 3998-4010.

Enzimes alapanyagokat használó szintetikus közleményeim

34. F. Fülöp; **E. Forró**; G.K. Tóth: A new strategy to produce *β*-peptides: use of alicyclic *β*-lactams, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4239-4241.
35. L. Kiss; **E. Forró**; G. Bernáth; F. Fülöp: Synthesis of alicyclic *trans*-*β*-amino acids from *cis*-*β*-hydroxycycloalkylcarboxylates, *Synthesis* **2005**, 1265-1268.

36. F. Fülöp; M. Palkó; **E. Forró**; M. Dervarics; T. Martinek: Facile regio- and diastereoselective syntheses of hydroxylated 2-aminocyclohexanecarboxylic acids, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3214-3220.
37. Z. Szakonyi; S. Gyónfalvi; **E. Forró**; A. Hetényi; N.De Kimpe; F. Fülöp: Synthesis of 3- and 4-hydroxy-2-aminocyclohexanecarboxylic acids by iodocyclization, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 4017-4023.
38. L. Kiss; **E. Forró**; F. Fülöp: A new strategy for the regio- and stereoselective hydroxylation of *trans*-2-aminocyclohexenecarboxylic acid, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2855-2858.
39. L. Kiss; **E. Forró**; R. Sillanpää; F. Fülöp: Diastereo- and enantioselective synthesis of orthogonally protected 2,4-diaminocyclopentanecarboxylates: a flip from *β*-amino- to *β*,*γ*-diaminocarboxylates, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 8786-8790.
40. L. Kiss; B. Kazi; **E. Forró**; F. Fülöp: A new strategy for the preparation of heterocyclic *β*-amino esters: orthogonally protected *β*-amino esters with a piperidine skeleton, *Tetrahedron Lett.* **2008**. *49*, 339-342.
41. L. Kiss; **E. Forró**; T. Martinek; G. Bernáth; N.De Kimpe; F. Fülöp: Stereoselective synthesis of hydroxylated *β*-aminocyclohexanecarboxylic acids, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 5036-5043.
42. G. Benedek; M. Palkó; E. Wéber; T.A. Martinek; **E. Forró**; F. Fülöp: Efficient syntheses of hydroxy-substituted cispentacin derivatives, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 3724-3750.
43. F. Fülöp; F. Miklós; **E. Forró**: *Diexo*-3-aminonorbornane-2-carboxylic acid as highly applicable chiral source for the enantioselective synthesis of heterocycles, *Synlett* **2008**, *11*, 1687-1689.
44. L. Kiss; **E. Forró**; R. Sillanpää; F. Fülöp: Novel functionalized cispentacin derivatives. Synthesis of 1,2,3-triazole-substituted 2-aminocyclopentanecarboxylate stereoisomers, *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 2856-2860.
45. L. Kiss; M. Nonn; **E. Forró**; R. Sillanpää; F. Fülöp: Synthesis of novel isoxazoline-fused cispentacin stereoisomers, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 2605-2608.
46. G. Benedek; M. Palkó; E. Wéber; T.A. Martinek; **E. Forró**; F. Fülöp: Efficient synthesis of 3,4- and 4,5-dihydroxy-2-aminocyclohexanecarboxylic acid enantiomers, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 2220-2225.
47. B. Kazi; L. Kiss; **E. Forró**; F. Fülöp: Synthesis of orthogonally protected azepane *β*-amino ester enantiomers, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 82-85.
48. L. Kiss; **E. Forró**; R. Sillanpää; F. Fülöp: Synthesis of highly functionalized cyclopentanes as precursors of hydroxylated azidocarbonucleosides, *Synthesis*, **2010**, 153-160.
49. L. Kiss; **E. Forró**; R. Sillanpää; F. Fülöp: Synthesis of conformationally restricted 1,2,3-triazole-substituted ethyl *β*- and *γ*-aminocyclopentanecarboxylate stereoisomers. Multifunctionalized alicyclic amino esters, *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 3599-3607.
50. B. Kazi; L. Kiss; **E. Forró**; I. Mándity; F. Fülöp: Synthesis of conformationally constrained, orthogonally protected bicyclic *β*-amino esters with a 3-azabicyclo[3.2.1]octane skeleton, *Arkivoc* **2010**, (ix) 31-39.
51. M. Palkó; G. Benedek; **E. Forró**; E. Wéber; M. Hänninen; R. Sillanpää; F. Fülöp: Synthesis of mono- and dihydroxy-substituted 2-amino-cyclooctanecarboxylic acid enantiomers, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 957-961.

Egyéb szintetikus és analítikai közleményeim

52. G. Török; A. Péter; **E. Forró**; F. Fülöp: Method development for the high-performance liquid chromatographic enantioseparation of 2-cyanocycloalkanols, *J. Chromatogr. Sci.* **2001**, *39*, 188-194.

53. A. Péter; A. Árki; D. Tourwé; **E. Forró**; F. Fülöp; D.W. Armstrong: Comparison of the separation efficiencies of Chirobiotic T and TAG columns in the separation of unusual amino acids, *J. Chromatogr. A* **2004**, *1031*, 159-170.

54. L. Lázár; Z. Szakonyi; **E. Forró**; M. Palkó; Z. Zalán; I. Szatmári; F. Fülöp: Gyulladásgátló hatású hidrazinoalkoholok szintézise, *Acta Pharm. Hung.* **2004**, *74*, 11-18.

55. A. Péter; A. Árki; **E. Forró**; F. Fülöp: Direct high-performance liquid chromatographic enantioseparation of *β*-lactam stereoisomers, *Chirality* **2005**, *17*, 193-200.

56. R. Berkecz; I. Ilisz; **E. Forró**; F. Fülöp; D.W. Armstrong; A. Péter: LC Enantioseparation of aryl-substituted ß-lactams using variable-temperature conditions, *Chromatogr.* **2006**, *63*, S29-S35.

57. R. Berkecz; R. Török; I. Ilisz; **E. Forró**; F. Fülöp; D.W. Armstrong; A. Péter: LC Enantioseparation of ß-lactam and ß-amino acid stereoisomers and a comparison of macrocyclic glycopeptide- and *β*-cyclodextrin-based columns, *Chromatogr.* **2006**, *63*, S37-S43.

58. P. Sun; C. Wang; D.W. Armstrong; A. Péter; **E. Forró**: Separation of enantiomers of *β*-lactams by HPLC using cyclodextrin-based chiral stationary phases, *J. Liq. Chrom. and Related Tech.* **2006**, *29*, 1847-1860.

59. E. Vass; M. Hollósi; **E. Forró**; F. Fülöp: VCD-Spectroscopic investigation of enantiopure cyclic *β*-lactams obtained through Lipolase-catalyzed enantioselective ring-opening reaction, *Chirality* **2006**, *18*, 733-740.

60. R. Berkecz; A. Sztojkov-Ivanov; I. Ilisz; **E. Forró**; F. Fülöp; M.H. Hyun; A. Péter: High-performance liquid chromatographic enantioseparation of *β*-amino acid stereoisomers on a (+)-(18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid-based chiral stationary phase, *J. Chromatogr. A* **2006**, *1125*, 138-143.

61. T.A. Martinek; I.M. Mándity; L. Fülöp; G.K. Tóth; E. Vass; M. Hollósi; **E. Forró**; F. Fülöp: Effects of the alternating backbone configuration on the secondary structure and self-assembly of *β*-peptides, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13539-13544.

62. J. Frelek; M. Górecki; A. Suszczyñka; **E. Forró**; Z. Majer: Dimolybdenum tetraacetate as an auxiliary chromophore ín absolute configuration determination of amino acids from their circular dichroism spectra – foundations and developments, *Mini Rev. Org. Chem.* **2006**, 281-290.

63. I. Schuster; A. Koch; M. Heydenreich; E. Kleinpeter; **E. Forró**; L. Lázár; R. Sillanpää; F. Fülöp: Synthesis and conformational analysis of tetrahydroisoquinoline-fused 1,3,2-oxazaphospholidines and 1,2,3-oxathiazolidines, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 1464-1472.

64. A. Keresztes; M. Szűcs; A. Borics; K.E. Kövér; **E. Forró**; F. Fülöp; C. Tömböly; A. Péter; A. Páhi; G. Fábián; M. Murányi; G. Tóth: New endomorphin analogues containing alicyclic *β*-amino acids: influence on bioactive conformation and pharmacological profile, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4270-4279.

65. A.R.M. Hyyryläinen; J.M.H. Pakarinen; **E. Forró**; F. Fülöp; P. Vainiotalo: Chiral differentiation of some cyclopentane and cyclohexane *β*-amino acid enantiomers through ion/molecule reactions, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2009**, *20*, 1235-1241.

66. K. Huang; D.W. Armstrong; **E. Forró**; F. Fülöp; A. Péter: Separation of enantiomers and control of elution order of *β*-lactams by GC using cyclodextrin–based chiral stationary phases, *Chromatographia* **2009**, *69*, 331-337.

67. I. Ilisz; R. Berkecz; **E. Forró**; F. Fülöp; D.W. Armstrong; A. Péter: The role of π-acidic and π-basic chiral stationary phases in the high-performance liquid chromatographic enantioseparation of unusual ß-amino acids, *Chirality* **2009**, *21*, 339-348.

68. A.R.M. Hyyryläinen; J.M.H. Pakarinen; **E. Forró**; P. Vainiotalo: Chiral differentiation of some cyclic *β*-amino acids by kinetic and fixed ligand methods, *J. Mass. Spectrom.* **2009** *20*, 1235-1241.

69. Z. Patai; R. Berkecz; I. Ilisz; **E. Forró**; F. Fülöp; A. Péter: Comparison of separation performances of amilose- and cellulose-based stationary phases in the high-performance liquid chromatographic enantioseparation of stereoisomers of *β*-lactams, *Chirality* **2010**, *22*, 120-128.

70. Z. Pataj; I. Ilisz; **E. Forró**; F. Fülöp; D.W. Armstrong; A. Péter: Comparison of separation performances of amylose- and cellulose-based stationary phases in the high-performance liquid chromatographic enantioseparation of stereoisomers of *β*-lactams *Proc. Chem.* **2010**, *2*, 116-119.

71. K. Németh; E. Varga; R. Iványi; J. Szemán; J. Visy; L. Jicsinszky; L. Szente; **E. Forró**; F. Fülöp; A. Péter; M. Simonyi: Separation of *cis*-*β*-lactam enantiomers by capillary electrophoresis using cyclodextrin derivatives, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2010**, *53*, 382-388.

72. Z. Patai; I. Ilisz; A. Aranyi; **E. Forró**; F. Fülöp; D.W. Armstrong; A. Péter: LC Separation of γ-amino acid enantiomers, *Chromatografia* **2010**, *71*, 13-19.

73. G. Fodor; I. Ilisz; J. Szemán; R. Iványi; L. Szente; G. Varga; **E. Forró**; F. Fülöp; A, Péter: LC Enantioseparation of *β*-lactam stereoisomers through the use of *β*-cyclodextrin-based chiral stationary phases, *Chromatografia* **2010**, *71*, 29-34.

74. C.D. Chisholm; F. Fülöp; **E. Forró**; T.J. Wenzel: Enantiomeric discrimination of cyclic *β*-amino acids using (18-crown-6)-2,3,11,12-tetracarboxylic acid as a chiral NMR solvating agent, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *közlésre elfogadva*.